

柴胡皂苷对肝脏的药理毒理作用研究进展

黄幼异^{1,2}, 黄伟², 孙蓉^{1*}

(1. 山东省中医药研究院, 济南 250014; 2. 山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 介绍柴胡皂苷对肝脏功效与肝毒性的最新研究进展,为相关研究提供文献依据和研究思路。对柴胡皂苷近 5~10 年来国内外相关文献 21 篇进行整理、分析与归纳。研究认为柴胡皂苷是柴胡发挥疏肝解郁功效的主要物质基础;临床应用和现代研究过程中亦逐渐认识到柴胡皂苷具有肝脏毒性,其肝损伤机制与途径主要与多途径的氧化应激损伤有关。柴胡的毒性研究及毒性物质的安全控制需在其功效表达和功效物质分离与控制过程中进行,才能提出切合柴胡临床使用过程中不良反应的预警方案和早期诊疗措施,保证其临床用药安全,科学应对国内外有关柴胡毒性的相关问题。

[关键词] 柴胡皂苷; 肝脏; 抗肝损伤; 抗肝纤维化; 肝毒性

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0298-04

Research Development on Pharmacological Effects and Hepatotoxicity of Bupleurum Saikosaponin

HUANG You-yi^{1,2}, HUANG Wei², SUN Rong^{1*}

(1. Shandong Research Academy of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China;
2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** By summarizing the latest research development on pharmacological effects and hepatotoxicity of Bupleurum saikosaponin, to provide the literature accordance and research ideas. **Method:** By searching the CNKI and NCBI databases, the related references in recent 5-10 years both at home and abroad about Bupleurum saikosaponin were collected, analyzed and summarized. **Result:** Bupleurum saikosaponin were the mainly chemical components of Bupleurum which had the hepatoprotective effect; the hepatotoxicity of Bupleurum saikosaponin were gradually recognized on the process of clinical application and modern research, and the hepatic damage mechanism and channel were mainly related with the multi-channel oxidative injury. **Conclusion:** Only in the process of effect expression and the effective materials separation and control of Bupleurum when studying its toxicity and toxic materials, it could propose the early adverse reaction warning program and early diagnosis treatment measures properly and guarantee the clinical use of Bupleurum safely, so that to deal with relative problems of its hepatotoxicity both at home and abroad scientifically.

[Key words] Bupleurum saikosaponin ; liver; anti-liver-damage; anti-liver-fibrosis; hepatotoxicity

[收稿日期] 20101031(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30672649); 国家 863 科技攻关计划课题(2006GG2202065); 国家重点基础研究发展计划(973)中医基础理论专项(2009CB522802); 重大新药创制新药研究开发关键技术(2009ZX09502-015); 山东省科技平台建设项目(2008GG2NS02021); 山东省科技公关关键技术研究课题(2007GG2NS02073); 山东省国际合作引智项目(L20083700336)

[第一作者] 黄幼异, 硕士研究生, 研究方向: 中药药理与毒理, Tel: 0531-82949843, E-mail: zoe.huang00@gmail.com

[通讯作者] * 孙蓉, 硕士生导师, 研究员, 博士后, 研究方向: 中药药理与毒理, Tel: 0531-82949843, E-mail: sunrong107@163.com

柴胡皂苷 (saikosaponins, SS) 是从伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 和狭叶柴胡 *B. scozoniferolium* Willd. 的干燥根中获得的一类成分,是柴胡的主要化学和生物活性成分^[1]。关于 SS 的化学成分研究已经较为深入,至今为止,共研究了该属 20 多种柴胡,从柴胡属植物已分离出 90 多种皂苷类成分,发现了 30 多种新化合物。近 10 年分离鉴定的皂苷为 43 个,文献报道较多的是 SSa,SSb,SSc,SSd 等。现代药理研究表明,SS 具有解热、镇静、抗炎、免疫调节、抗病毒、抗肝纤维化、

抗肿瘤等药理活性^[2],一般认为 SSa 和 SSd 为其主要活性成分,而尤以 SSd 的药理活性最强^[3]。目前,国内外学者把 SS 应用于肾病、肝纤维化、肿瘤等疾病治疗取得了显著疗效,但以保肝作用效果最佳,这也与传统中医记载柴胡疏肝解郁功效一致。虽然历代本草未将柴胡列为有毒之品,但在历史漫长的应用过程中,一些医家逐渐认识到柴胡亦有一定的毒副作用,尤以叶天士在《幼科要略》中提到的“柴胡劫肝阴”为后世所重视。目前国内外关于柴胡毒副作用报道日益增多,尤其是日本大规模的柴胡中毒事件报道,引起了国内外医学界的重视。近 5 年来关于柴胡以及 SS 的肝毒性研究日益引起人们的高度重视,也进行了一系列肝毒性“定性、定位、定量”的实验研究。那么 SS 的保肝作用与肝毒性究竟是柴胡发挥“疏肝解郁”功效过程中不同的“剂量与效应”关系表达,还是各自的“药效物质基础”与“毒性物质基础”有所不同所产生的不同的生物效应,这些问题对于将来临床合理、安全应用柴胡、柴胡制剂乃至含柴胡的复方,尤其是能否“安全、有效、可控”研发 SS 的相关创新性药物至关重要。本文就 SS 近 5~10 年来的保肝作用与肝毒性研究进展作一综述,为进一步深入开展功效和毒性导向下的化学成分分离、控制和功效与毒性成分的“量-效关系”和“量-毒关系”研究以及 SS 的早期 ADMET 的过程研究提供文献依据和研究思路。

1 对肝脏的药理作用

柴胡功善疏肝解郁,升举清气,历代医家常以其治肝郁气滞等症,临床疗效显著。现代药理研究发现 SS 保肝作用的特点为:①降低细胞色素 P450 的活性,对肝细胞坏死具有保护作用,同时还促进肝细胞再生;②刺激垂体肾上腺皮质系统,使内源性糖皮质激素分泌增加;③降低细胞色素 C 还原酶的活性,使得脱氢酶活性下降,激素样副作用降低;④使巨噬细胞活化,促进抗体、干扰素产生,增强 NK 细胞和 LAK 细胞活性,调节免疫;⑤促进蛋白合成,增加肝糖原,降低过氧化脂质,促进肝细胞再生。近年来,在研究柴胡皂苷对肝脏的药理作用方面,主要进展为发现其具有对抗多种因素导致的肝损伤和肝纤维化。

1.1 抗肝损伤 SS 对 CCl₄、D-氨基半乳糖、脂多糖及卡介苗致小鼠慢性肝损伤均有显著的修复保护作用,其有效成分是 SS 单体 III,VI 和 XIII^[4]。周世文等发现 SS 对 CCl₄ 实验性肝损伤小鼠有保护和促进肝内脂质代谢的作用,使肝内过

氧化脂质含量降低,ALT 和 TG 含量降低,而 GSH 含量升高;提示 SS 通过减少氧及其他自由基对肝脏损伤和提高细胞色素 P450 等其他毒物结合酶系统,加强肝脏对毒物代谢而发挥保肝作用^[2]。近年来,用 SS 治疗 CCl₄ 所致的肝损伤大鼠模型也得到了以上的效果。日本学者对 SS 及柴胡制剂进行了大量研究,证实 SS 有抗炎、促进蛋白质合成、增加肝糖原、改善高脂血症及防治脂肪肝等作用^[2]。乙酰胆碱具有调节消化和神经系统功能的作用,可被胆碱酯酶水解。SS 可以抑制胆碱酯酶,发挥拟胆碱样作用,进而发挥“疏肝解郁”的功效。李素婷研究发现:SSd 对乙醇损伤大鼠肝细胞有保护作用,其机制可能与 SSd 清除自由基、抑制脂质过氧化作用有关^[5];陈爽等发现柴胡皂苷对肝细胞具有保护作用,表现为直接抑制原代培养贮脂细胞(FSC)内 DNA 的合成,还可抑制 FSC 的激活,从而抑制 FSC 合成细胞外基质(ECM)的能力。有学者研究 SS 对肝细胞的影响,认为其具有促进肝细胞增殖,使肝细胞内 DNA 含量呈上升趋势^[2]。林明栋等体外研究首次发现柴胡分离组分 CH-5(柴胡粗皂苷)能显著抑制小鼠肝制备腺苷酸环化酶(AC)的活性,在一定浓度范围内有明显量效关系^[5]。Chiang 等^[6]研究了 SSa,SSc,SSd 的细胞毒和抗乙肝病活性,将 SS 和已感染乙病毒的人肝细胞一起培养,发现 SSd 对感染乙病毒的人肝细胞有细胞毒作用,因此而发挥治疗乙肝的疗效。

1.2 抗肝纤维化 肝纤维化是慢性肝病的共有病理变化,不同病因导致的慢性肝损伤,使得肝细胞外基质(ECM)合成增加、降解不足,过多沉积在肝内引起肝纤维化。肝纤维化主要病理机制为:①肝细胞慢性损伤;②星状细胞激活导致细胞外基质产生;③细胞因子紊乱后促进活化肝星状细胞的凋亡。SS 对上述环节有一定作用。

研究发现,SSd 在抑制乙病毒、保护肝细胞、抑制星形细胞活化、细胞因子生成等方面发挥了抗肝纤维化作用^[2]。作用机制与降低 α-SAM 表达,抑制肝 HSC 活化^[7],升高 IL-10,NO,降低 TNF-α 有关^[8],也可能与改善纤溶功能、清除过氧化脂质和调节血清中微量元素锌、钙的水平有关^[9-11]。由于受条件所限,大量的研究数据来自于体外研究。肝星状细胞(HSC)又称贮脂细胞(FSC),病理状态 FSC 被激活和增殖并合成胶原和细胞外基质(ECM),使胶原和 ECM 过度蓄积从而形成肝纤维化。SS 可以抑制 FSC 激活及 FSC 合成 ECM 的能力,且 SS 还可以有效地稳定肝细胞膜系统,中和可溶性细胞因子对肝细胞增殖的抑制效应,防止肝细胞损伤和坏。陈爽等发现柴胡皂苷可抑制 FSC 的激活,从而抑制 FSC 合成细胞外基质(ECM)的能力,并进一步研究发现,实验组肝细胞(HC)内 DNA 含量呈上升趋势,胶原蛋白总量及 I,III,IV 型胶原和纤维粘连蛋白(FN)含量及其合成受到抑制,从而抑制了 HC 对 ECM 的合成^[2]。Chiang LC 等^[6]利用 HBV 转染的人类肝癌细胞观察柴胡皂苷 a,c,d 的作用发现,柴胡皂苷 c 可明显抑制培养基中 HbeAg 的表达,HBV-DNA 的复制也得到了有效抑制,提示柴胡皂苷可阻止乙型肝炎向肝纤维

化的转化。肝细胞体外研究发现 SSd 可升高 DNA 含量,降低胶原蛋白总量, I, III, IV 型胶原和 FN 含量并抑制合成有关。陈爽等证实体外 SS 可直接抑制星形细胞内 DNA 合成、组织细胞外基质生成、还能阻止星形细胞释放可溶性细胞因子如 TGF- β 、白细胞介素、血小板衍生生长因子等,最新报道 SSd 可显著抑制大鼠肝星形细胞骨形成蛋白-4 (BMP-4) mRNA 的表达,而 BMP-4 与星形细胞活化标志 α -SMA 的表达成相关性,提示 SSd 可抑制星形细胞活化^[2]。综上,SSd 通过自身抗炎和免疫调节发挥抗肝纤维化作用,SS 可直接抑制 FSC 内 DNA 合成、抑制 FSC 激活使得 FSC 合成 ECM 能力下降而发挥抗肝纤维化作用。

2 对肝脏的毒理作用

通过临床应用的不断总结、研究,在《本经》中被列为上品的柴胡,其毒副作用逐渐被认识,柴胡的肝毒性研究日益受到人们重视。现有的大量临床不良反应报道提示,当大剂量、长时间服用柴胡时,能造成明显的肝脏毒性^[12-13]。SS 因是柴胡主要化学和药理活性成分,其毒性研究报道也越来越多。

孙蓉等^[14]发现,不同基源、炮制和提取方法的柴胡样品中柴胡总皂苷、柴胡皂苷 a 含量与和急性毒性大小呈正相关,柴胡总皂苷小鼠口服 LD₅₀ 为 4.5 g·kg⁻¹,大鼠给予柴胡 30 d 可致肝功异常^[15]。孙蓉等^[16]研究亦证实长时间、大剂量使用柴胡水煎剂可造成大鼠明显的肝毒性损伤,与临床报道相一致;为了进一步发现其导致肝毒性的物质基础,进行了不同组分之间的大鼠肝毒性比较研究,发现柴胡不同组分均可导致大鼠肝毒性损伤,其途径与过氧化损伤机制有关;且醇提组分的肝毒性损伤程度高于水提组分,而醇提组分的 SS, SSa 和 SSd 的含量明显高于水提组分。柴胡醇水提取物可导致血谷丙转氨酶 (ALT), 谷草转氨酶 (AST) 活性增高,总-SH 含量降低;血和肝内丙二醛 (MDA) 含量增加, GSH 含量降低,超氧化物歧化酶 (SOD), GSH-Px 活性下降;上述变化随剂量的增加而逐渐加重,与蒸馏水对照组相比有明显差异。提示柴胡醇水提取物长期给药后可导致大鼠明显的肝毒性损伤,其损伤途径与机体氧化应激后诱导脂质过氧化,组织内活性分子巯基损耗而造成肝组织损伤有关^[17]。孙蓉等^[18-19]还考察了 SS 的肝毒性,结果发现长期给 SS 可致大鼠明显的肝毒性损伤,既可致肝功指标的改变,又可致肝细胞器质性病变,并指出其导致大鼠肝毒性损伤途径与氧化损伤机制密切相关,上述结果提示 SS 是柴胡导致肝毒性的主要物质基础。李涛等^[20]关于 SSd 对人肝细胞 L-02 体外毒性机制探讨发现:SSd 具有较强的体外肝毒性,并指出其机制可能是由于 SSd 诱导细胞膜通透性增加从而导致细胞损伤或坏死,而不是诱导细胞凋亡。总之,关于 SS 毒性研究尚处于起步阶段,其导致毒性的具体成分、靶点以及毒性机制和毒代动力学等问题都需要我们进一步研究。

3 讨论

SS 是柴胡产生保肝作用和肝毒性的主要物质基础,其

对肝脏的药理作用主要表现在抗肝损伤和抗肝纤维化作用。现代药理研究表明,SS 在解热、镇静、抗炎、抗肿瘤、抗肝纤维化、保肝等多方面具有良好的作用效果;同时亦发现,近年来日益增多的临床不良反应与 SS 的体内蓄积密切相关。

中药的毒性是在中医理论指导下,临床辨证用药过程中和临床功效的表征过程中被逐渐发现和认识的,其功效和毒性的表达与证候密切相关^[21]。而目前对中药功效和毒性的研究都仅局限在化学、药理、毒理等单一学科之间,都是单纯的成分分离、活性研究和就功效论功效、就毒性论毒性,相互之间缺乏关联性;而且也缺乏适宜的中药药理学研究方法和中药药效评价技术,以及中医理论指导下符合现代化、国际化要求的中药肝毒性研究方法和评价技术。因此,对于 SS 的保肝作用和毒性研究应放在中医功效和证候的背景下进行综合评价和科学认知,在研究 SS 保肝作用过程中进行肝毒性和相关物质基础的研究,探讨其“有效治疗窗”和“药物安全窗”,根据其体内过程可制订毒性物质基础的安全限度或功效物质基础发挥保肝作用的最低限度,以期保证 SS 的临床用药安全、有效。通过进一步研究 SS 保肝作用和肝毒性,明确其有效成分、毒性成分和临床应用的对应关系,对于现代临床应用中药及中西药结合应用有很大帮助。另外,关于 SS 的肝毒性研究尚处于起步阶段,其产生肝毒性的皂苷类具体成分、具体靶点以及致毒机制和毒代动力学等尚未见文献报道,均有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 史青,聂淑琴,黄璐琦,等. 柴胡属植物化学成分及药理研究新进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(5):53.
- [2] 朱兰香,刘世增,顾振纶. 柴胡皂苷的药理作用及抗肝纤维化的应用[J]. 中草药, 2002, 33(10):附5.
- [3] 刘沁虹,谭利,白焱晶,等. 柴胡属植物皂苷近 10 年研究概况[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(1):7.
- [4] 谢东浩,蔡宝昌,安益强,等. 柴胡皂苷类化学成分及药理作用研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2007, 23(1):63.
- [5] 李素婷,姜凌霄,周晓慧,等. 柴胡皂苷-d 对乙醇损伤原代培养大鼠肝细胞的保护作用及其机制研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(11):2752.
- [6] Chiang L C, Ng L T, Liu L T, et al. Cytotoxicity and anti-hepatitis B virus activities of saikosaponins from *Bupleurum* species [J]. Lanta Med, 2003, 69(8):705.
- [7] 李素婷,杨鹤梅,齐洁敏,等. 柴胡皂苷-d 对酒精性肝纤维化大鼠星形细胞活化的影响[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8):1897.
- [8] 郭景珍,万方,李忻,等. 柴胡皂苷 d 对二甲基亚硝胺致肝纤维化大鼠炎症相关因子的影响[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(11):970.

- [9] 万方,郭景珍,李忻,等. 柴胡皂苷 d 对肝纤维化大鼠 TPA、PAI、MDA 及 NO 影响的研究[J]. 中国药房, 2007,18(24):1847.
- [10] 郭景珍,万方,李忻,等. 柴胡皂苷 d 对肝纤维化大鼠脂质过氧化与微量元素锌、钙的影响[J]. 中药药理与临床,2009,25(3):11.
- [11] 何燕,胡志峰,李平,等. 柴胡皂苷 d 抗肝纤维化大鼠脂质过氧化作用的研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(8):915.
- [12] 梁少媚,张红梅,龙华. 37 例柴胡注射液不良反应分析[J]. 今日药学,2008,18(2):62.
- [13] 苏立稳. 浅析中药引起的肝损害[J]. 实用肝脏病杂志,2003,6(3):183.
- [14] 孙蓉,王丽,任海勇,等. 基原对柴胡急性毒性和皂苷类物质含量影响的实验研究[J]. 中国药物警戒, 2009,6(12):705.
- [15] 孙蓉,黄伟,李素君,等. 关于“柴胡劫肝阴”的源流发展与初步实验研究[J]. 中国药物警戒,2009,6(10):577.
- [16] 吕丽莉,黄伟,孙蓉,等. 不同柴胡组分对大鼠肝毒性与氧化损伤机制影响的研究[J]. 中国中药杂志, 2009,34(18):2364.
- [17] 孙蓉,吕丽莉,王丽,等. 柴胡致大鼠肝毒性氧化损伤机制研究[J]. 中药药理与临床,2009,25(1):49.
- [18] 吕丽莉,黄伟,孙蓉,等. 柴胡总皂苷粗提取物对大鼠肝毒性损伤作用研究[J]. 中国药物警戒,2009,6(4):202.
- [19] 黄伟,吕丽莉,孙蓉,等. 柴胡总皂苷粗提取物致大鼠肝毒性氧化损伤机制研究[J]. 中草药,2009,40(增刊):8.
- [20] 李涛,江振洲,王涛,等. 柴胡皂苷 d 对人肝细胞 L-O2 体外毒性机制探讨[J]. 中国临床药理学与治疗学,2007,12(4):396.
- [21] 孙蓉,黄伟,鲍志烨,等. 基于功效和化学物质基础的半夏毒性研究进展[J]. 中国药物警戒,2010,7(1):37.

[责任编辑 邹晓翠]

本刊欢迎网上投稿

《中国实验方剂学杂志》2010 年正式施行网上投稿,请登录本刊网站 www.syfjxzz.com 注册会员,登陆采编系统之后按照提示在线投稿。本刊对网上来稿免收稿件处理费。编辑部对来稿有修改权。经审后,如录用,请按通知要求交纳论文发表费。详见本刊稿约。